CERTIFICATE OF PARTICIPATION

This certificate is proudly presented to

Doc. Dr. Hakan ÖZKAN

in oral and online presentation,

recognition and appreciation of research contributions to

1st INTERNATIONAL CONGRESS ON NATURAL SCIENCES (ICNAS-2021)

10-12 SEPTEMBER 2021

Atatürk University, ERZURUM, TURKEY

with the paper entitled

" PROTEIN HYDROLYSATES FROM ANIMAL WASTE PRODUCTS "

Assoc. Prof. Dr. Hakan OZKAN
Congress co-Chairman
ATATURK UNIVERSITY /TURKEY

Assoc. Prof. Dr. Bekir GURBULAK
Congress Chairman
ATATURK UNIVERSITY /TURKEY

1st INTERNATIONAL CONGRESS ON NATURAL SCIENCES (ICNAS-2021)

ABSTRACT AND FULL TEXT CONGRESS BOOK

Editors:
Assos. Prof. Dr. Bekir GÜRBULAK
Assos. Prof. Dr. Hakan ÖZKAN

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ YAYINLARI
ATATURK UNIVERSITY PUBLICATIONS

FOREWORD

First of all, I would like to extend my greetings to you all with love and respect and it is my pleasure to welcome you on behalf of members of the Congress Council as a chair to the "1st International Congress on Natural Sciences (ICNAS-2021).
I would like to thank the members of the organizing committee, the members of the technical team, the members of the scientific board, the invited speakers on behalf of the organizing committee who contributed to the performing of this congress.
In addition, I would like to thank, on behalf of the organizing committee, of Atatürk University administrators who gave us all kinds of support, Computer Sciences Research and Application Centers (BAUM), KID and everyone who contributed by submitting papers.

At this congress (ICNAS 2021), a total of 153 presentations will be held in 4 parallel sessions. It is important to prepare such a comprehensive congress for our faculty. I believe that this congress will be a good example of the congresss that will be held in the following years.

1st INTERNATIONAL CONGRESS ON NATURAL SCIENCES (ICNAS-2021)			
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
BIOLOGY+MOLECULAR BIOLOGY and GENETICS	06+05=11	11+13=24	35
PHYSICS + ASTROPHYSICS	18+04=22	16+03=19	31
CHEMICAL	43	02	45
MATMEMATICS	13	08	21
NANOSCIENCE AND NANOTECHNOLOGY	09	02	11
TOTAL NUMBER OF PARTICIPANTS	98	55	153

We had been thinking about the idea of preparing a Congress specific to our faculty for a long time, but we expected the conditions to mature. After determining that our university and our supporters are ready to held such a congress, we decided to organize this congress for the date of September 10, 2021 and that is why we are together today.

Dear my colleagues,
This congress aims to bring together academic staffs working in the field of science and researchers interested in these fields, to find solutions to problems and to produce common mind by sharing knowledge and experience. The use of experimental and theoretical studies presented at this **ICNAS-2021**conference in technology is also within the scope of interest and scope of the congress.
Our main goal at this congress is to create a common mind for solving short-and medium-term scientific problems, to create solutions and to share experiences. Although we are not closed to original studies carried out in engineering and health fields, we did not want the content of the congress to be very broad. In addition to attracting the interest of university administrators in the natural sciences, we want to devote more time to science problems and searching for solutions.

USE OF RAW GLYCEROL AS CARBON SOURCE IN THE MICROBIAL PRODUCTION OF BIOTECHNOLOGICAL SUBSTANCES

Arş. Gör. Tugba ORAK , Arş. Gör. Şeyda ALBAYRAK, Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL, Doç. Dr. Hakan ÖZKAN, Prof. Dr. Mesut TAŞKIN

Fen Fakültesi, Atatürk Üniversitesi, TURKEY

Corresponding author: tugbaorak@atauni.edu.tr
(ORCID:0000-0002-9573-7448)

ABSTRACT

Glycerol, the structural component of many lipids, is abundant in the natural environment and is considered a valuable raw material for the production of industrially useful metabolites. For this reason, it has found many applications in the cosmetics, paint, automotive, food, pharmaceutical, paper and textile industries. Commercial scale glycerol exists in three different forms: (i) crude glycerol, (ii) purified/refined glycerol, (iii) commercially synthesized glycerol. Crude glycerol is the main by-product obtained during the transesterification reaction for biodiesel production. It usually contains impurities such as methanol, soap, salts, oils and solid organic substances. Since biodiesel is produced from cheap substrates, the glycerol produced cannot meet the market potential in terms of purity and cost. Due to the impurities it contains, crude glycerol cannot be used directly in the food or pharmaceutical industries. Therefore, it has less commercial value. Crude glycerol can be dangerous for the environment when released directly into the environment without proper treatment. One of the ways in which crude glycerol can be utilized is the biotransformation of this substance by microorganisms into high value-added products. Biological conversion is very important in terms of removing crude glycerol with an environmentally friendly solution. Many microorganisms, including *Actinobacillus succinogenes*, *Aspergillus niger*, *Citrobacter freundii*, *Clostridium butyricum*, *Escherichia coli*, *Gluconobacter* sp., *Klebsiella pneumoniae*, *Mucor* sp., *Rhodotorula glutinis*, *Yarrowia lipolytica* can use glycerol. Microorganisms that can use glycerol have the ability to synthesize many metabolic products such as organic acids, diols, single cell lipid, ethanol, biosurfactants, hydroxy-alkanoates, biohydrogen, biodiesel, etc. In this review, it gives information about the microorganisms that can use crude glycerol as a substrate and the valuable products produced using this carbon source.

Keywords: crude glycerol, single cell lipids, biodiesel, organic acid

BİYOTEKNOLOJİK MADDELERİN MİKROBİYAL ÜRETİMİNDE KARBON KAYNAĞI OLARAK HAM GLİSEROLÜN KULLANIMI

ÖZET

Birçok lipidin yapısal bileşeni olan gliserol, doğal ortamda bol miktarda bulunmakta ve endüstriyel olarak faydalı metabolitlerin üretimi için değerli bir hammadde olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle kozmetik, boya, otomotiv, gıda, ilaç, kağıt, ve tekstil endüstrilerinde birçok uygulama alanı bulmuştur. Ticari ölçekte gliserol; (i) ham gliserol, (ii) saflaştırılmış/rafine gliserol, (iii) ticari olarak sentezlenmiş gliserol olmak üzere üç farklı formda bulunmaktadır. Ham gliserol biyodizel üretimi için transesterifikasyon reaksiyonu sırasında elde edilen ana yan üründür. Genellikle metanol, sabun, tuzlar, yağlar ve katı organik maddeler gibi safsızlıklar içermektedir. Biyodizel ucuz substratlardan üretildiğinden, üretilen gliserol saflık ve maliyet açısından pazar potansiyelini karşılayamamaktadır. İçerdiği safsızlıklar nedeniyle ham gliserol, doğrudan gıda veya ilaç endüstrilerinde kullanılamamaktadır. Bu nedenle daha az ticari değere sahiptir. Ham gliserol uygun işlem yapılmadan doğrudan çevreye salındığında çevre için tehlikeli olabilmektedir. Ham gliserolün değerlendirilme yollarında birisi bu maddenin mikroorganizmalar tarafından biyotransformasyonu ile yüksek katma değerli ürünlere dönüştürülmesidir. Biyolojik dönüşüm ham gliserolün çevre dostu bir çözüm ile uzaklaştırılması bakımından oldukça önemlidir. *Actinobacillus succinogenes*, *Aspergillus niger*, *Citrobacter freundii*, *Clostridium butyricum*, *Escherichia coli*, *Gluconobacter* sp., *Klebsiella pneumoniae*, *Mucor* sp., *Rhodotorula glutinis*, *Yarrowia lipolytica* dahil olmak üzere birçok mikroorganizma gliserolü kullanabilmektedir. Gliserolü kullanabilen mikroorganizmalar; organik asitler, dioller, tek hücre lipidi, etanol, biyosürfaktanlar, hidroksi-alkanoatlar, biyohidrojen, biyodizel vb. gibi çok sayıda metabolik ürünü sentezleme yeteneğine sahiptir. Bu derlemede ham gliserolü substrast olarak kullanabilen mikroorganizmalar ve söz konusu mikroorganizmaların bu karbon kaynağını kullanarak ürettikleri değerli ürünler hakkında bilgi vermektedir.

Anahtar Kelimeler: ham gliserol, tek hücre lipidi, biyodizel, organik asit

1. Giriş

Birçok lipidin yapısal bileşeni olan gliserol tatlı, kokusuz, renksiz ve viskoz bir sıvıdır. Bu molekül, suda çözünmesini sağlayan üç hidroksil grubu içermektedir. Gliserolün erime noktası 17,9 ^{0}C ve kaynama noktası ise 290°C'dir. Moleküler formülü $CH_2OHCHOH\text{-}CH_2OH$ olan gliserol, endüstrilerde gliserin veya 1,2,3-Propanetriol olarak da bilinmektedir (Sivasankaran et al., 2019). Gliserol (1,2,3-Propanetriol), günlük uygulamada çok sayıda kimyasalın üretimi için birincil yapı hammaddesi olarak kullanılabilen organik kimyadaki çok yönlü moleküllerden biridir. (Khanna et al., 2012). Tatlı, kek, et ve peynirlerde nemlendirici olarak

kullanılmalarının yanısıra içecek ve yiyeceklerde çözücü, tatlandırıcı ve koruyucu; yiyecek ve alkolsüz içeceklerde tat ve renk verici olarak da kullanılabilmektedir (Monteiro et al., 2018).

Gliserol; biyolojik fermentasyon, petrokimyasallardan kimyasal sentez, sakkarozun bir katalizör varlığında yüksek basınç ve sıcaklık altında hidrojenlenmesiyle üretilmektedir. Ayrıca biyoetanol üretimi, sabun üretimi, bitkisel ve hayvansal yağların transesterifikasyon reaksiyonu ile biyodizel üretimi sırasında veya üretimin bir yan ürünü olarak da elde edilebilmektedir (Viana et al., 2012). Transesterifikasyon işlemi sırasında 1 mol trigliseritden; 3 mol biyodizel (ester) ve 1 mol gliserol üretilmektedir. Bu temelde, her biyodizel üretimi sırasında ağırlıkça yaklaşık %10 oranında gliserol oluşmaktadır. Üretilen gliserol çeşitli safsızlıklar içermekte ve ham gliserol olarak bilinmektedir. Ham gliseroldeki safsızlıklar esas olarak metanol, sabun, serbest yağ asitleri ve tuzu (katalizörlerden inorganik tuz kalıntıları), reaksiyona girmemiş mono, di ve trigliseroller ve sudan oluşmaktadır. İlaç, gıda ve kozmetik sektörleri için ham gliserolün farklı derecelerde saflaştırılması ve rafinasyonu gerçekleştirilmektedir. Kimyasal ön arıtma, metanol giderme, vakumlu damıtma, iyon değişimi, aktif karbon ve membran ayırma teknolojisi gibi saflaştırma teknikleri maliyetlidir ve bu nedenle nadiren ekonomik olarak uygulanabilirdir (Kosamia et al., 2020). Ham gliserolün herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan fermentasyon ortamında karbon kaynağı olarak kullanılması, saf gliserolün geleneksel kullanımına göre çok daha avantajlıdır. Ham gliserolün biyoteknolojik dönüşümü için yüksek katma değerli metabolik ürünlerin biyosentezi, ham gliserolün kullanımına ilişkin en umut verici uygulamalardan biridir (Samul et al., 2014).

1.2 Biyoteknolojik Maddeler

Etil Alkol

Kimyasal olarak C_2H_5OH veya EtOH olarak da bilinen etanol, doğrudan saf etanol olarak kullanılabilmekte veya "gasohol" üretmek için benzinle karıştırılmaktadır. Egzoz gazlarının emisyonunu azaltmak için benzin geliştirici veya oktan arttırıcı olarak ve biyoetanol-dizel karışımlarında kullanılmaktadır (Hajar et al., 2017). Gliserolün ticari fiyatı, ham gliserolün saflaştırması ve ham gliserolden etanol üretimi için biyo-dönüşüm maliyetleri; gliserolden etanol üretimini gözden geçirmeye teşvik etmiş ve bu yönde çalışmalar yapılmıştır. Araştırmacılar ekonomik olarak değerlendirmesi amacıyla, ham gliserolden yakıt etanol üretimi için *E. coli* 'nin kullanma potansiyeli olduğunu göstermiştir.

Etanol üretimi için kullanılabilecek birkaç farklı hammadde türü vardır (örn. şeker kamışı, mısır nişastası ve manyok); bununla birlikte, ham gliserolün düşük maliyeti

bir avantajdır (Posada & Cardona, 2010). Oksidatif metabolik yol kullanılarak etanol üretimi için mikrobiyal fermentasyonlar kullanılmıştır ve çalışmaların çoğunda karbon kaynağı olarak saf gliserol kullanılmıştır. Tek karbon kaynağı olarak ham gliserolün kullanılması, etanol üreten çalışmalarda sınırlıdır. Bununla birlikte ham gliserolü yüksek verim ve üretkenlikle etanole metabolize edebilen, patojenik olmayan bir mikroorganizma olan *Kluyvera cryocrescens* tanılanmıştır (Choi et al., 2011). *Klebsiella planticola*, etanol üretimi için incelenen başka bir organizmadır ve etanol seviyeleri 30 mol/L 'dir (Fan et al., 2010).

1,3 propandiol

1,3-propandiol (1,3-PD); gıda, kozmetik ve ilaç endüstrilerinde yaygın olarak kullanılan değerli, iki işlevli bir kimyasal bileşiktir. Biyositlerin ve heterosiklik bileşiklerin organik sentezinde bir ara madde olarak kullanılabilmekte veya özellikle kimyasal katalizörler tarafından polieterler, poliüretanlar ve polyesterler gibi gelişmiş özelliklere sahip yeni tip polimerler oluşturmak üzere dönüştürülebilmektedir (Dolejš et al., 2019).

1,3-propandiol üretme yeteneğine sahip bakteriler *Clostridium*, *Klebsiella*, *Citrobacter* ve *Escherichia* cinslerine ait türleri içermektedir (Rywińska et al., 2009). *Clostridia* genellikle güvenli olarak kabul edilmektedir (çoğu patojenik değildir), ancak *Enterobacteriacaea* ile karşılaştırıldığında, zorunlu anaerob oldukları için çalışılmaları zordur. Ancak 1,3-PD üreticileri açısından her iki aileye ait türler çok benzer verimlere sahiptir ve yan ürün olarak asetik asit üretmektedir. *Clostridia* türlerinin tercih edilmesinin bir diğer nedeni de vitamin ve besin takviyelerinin diğer organizmalara göre daha az katı olmasıdır (Willke & Vorlop, 2004). Ham gliserolden 1,3-PD üretimi ile ilgili çalışmalarda en çok çalışılan mikroorganizmalar *K. pneumoniae* ve *C. butyricum*'dur (Thomas Willke & Vorlop, 2008).

Hammaddelerin ve sulu çözeltiden diol geri kazanımının nispeten yüksek maliyeti, 1,3-PD üretiminin ticarileştirilmesinde büyük bir sınırlama teşkil etmektedir. Bunu aşmak için iki temel yaklaşım olarak verimi artırmak ve daha ucuz hammadde kullanmaktır. İlk yaklaşım, tasarlanmış bir *E. coli* suşunda heterolog olarak 1,3-PD üreterek ele alınmaktadır ve son zamanlarda saf gliserolden 104 g/L'ye kadar 1,3-PD verimi bildirilmiştir. Diğer bir strateji ise, biyodizel işleminden üretilen ham gliserolün kullanılmasıdır (Hiremath et al., 2011). Yapılan çalışmalarda kullanılan ham gliserol, farklı biyodizel üreticilerinden (farklı ülkelerde) elde edilmiştir ve bu parametre, ham gliserolden 1,3-PD üretimini karşılaştırırken dikkate alınması gereken ekstra bir değişken sağlamaktadır. Transesterifikasyon işlemi için kullanılan malzemeye (soya fasulyesi yağı, kolza tohumu ve kanola) bağlı olarak farklı 1,3-PD ürün verimlerinin elde edilebileceği kaydedilmiştir. Mikrobiyal 1,3-PD'nin fiyatı

esas olarak ürün verimi, nihai ürün konsantrasyonu ve fermentasyon süresinden etkilenmektedir (Thomas Willke & Vorlop, 2008).

González-Pajuelo ve çalışma arkadaşları tarafından *Clostridium butyricum* VPI 3266'nın ham ve saf gliserole toleransı incelenmiştir. *C. butyricum*'un saf gliserole (benzer dereceli) kıyasla ham gliserol için benzer bir tolerans gösterdiği tespit edilmiştir; üretkenlik ve verimin de çok benzer olduğu ve önemli ölçüde farklı olmadığı belirlenmiştir (González-Pajuelo et al., 2006).

Mu ve çalışma arkadaşları tarafından iki tip biyodizelden elde edilen ham gliserol kullanılarak *Klebsiella pneumoniae* DSM 2026 tarafından 1,3-PD üretimi incelenmiştir. Ham gliserol; soya fasulyesi yağının alkali katalizli bir metanolizinin yanı sıra lipaz katalizli bir işlemden de elde edilmiş ve sonuçta üretkenliklerin saf gliserol ile benzer olduğu gösterilmiştir. Bu durum ham gliserolün ön işleme tabi tutulmadan bir besleme stoğu olarak verimli bir şekilde kullanılabileceğini göstermiştir (Mu et al., 2006).

Hiremat ve çalışma ekibi tarafından biyodizel işleminden elde edilen ham gliserolden *Klebsiella pneumoniae* ATCC 15380 ile 1,3-propandiol üretimini gerçekleştirilmiştir. Optimizasyon çalışmaları 56 g/L'ye kadar 1,3-propandiol verimi ile sonuçlanmıştır ve 0.85 mol 1,3-propandiol/mol gliserol dönüşüm oranı elde edilmiştir (Hiremath et al., 2011).

Bütanol

Benzinle karşılaştırılabilir özellikleri nedeniyle umut verici bir alternatif yakıt olarak görülen bütanol; hormonların, vitaminlerin ve fren hidroliği formülasyonunun üretimi için bir çözücü olarak kullanılmakla beraber; ayrıca metakrilat ve bütilakrilat üretimi için hammadde kaynağıdır.

Bütanolün kimyasal sentezi petrokimya yolu ile gerçekleştirilmektedir. Geleneksel olarak, bütanol veya biyobütanol, ABE fermantasyon işlemi yoluyla lignoselülozik biyokütleden türetilmektedir. Konvansiyonel işlem, hücrelerin bütanol toksisitesi, düşük bütanol verimi, bütanolün aseton ve etanolden ayrılmasındaki zorluk ve zamanla kültürlerin kademeli dejenerasyonu gibi dezavantajlara sahiptir. Bu eksiklikler, endüstriyel biyobütanol üretimine engel olmaktadır. Biyokütle dışında, biyobütanol üretimi için bakılabilecek diğer substrat gliseroldür (Khanna et al., 2012).

Umut verici n-bütanol üreticisi *Clostridium acetobutylicum* KF158795'in substrat olarak gliserolü kullandığı ve optimize edilmiş koşullar altında 96 saatte 13.57 g/L bütanol ürettiği belirtilmiştir (Veza et al., 2021).

Yapılan çalışmalarda ham gliserolden bütanol (anaerobik fermentasyon yoluyla) üretimi için *C. pasteurianum* ile deneyler yapmıştır ve bu mikroorganizmanın etanolün yanı sıra önemli konsantrasyonlarda 1,3-PD ürettiği de belirlenmiştir. *C. acetobutylicum*'un aksine, *C. pasteurianum*, tek karbon kaynağı olarak gliserol kullanma yeteneğine sahiptir. Diğer iki *Clostridia* suşu ile karşılaştırıldığında *C. pasteurianum*, gliserol hammaddesinden önemli ölçüde daha yüksek bütanol verimi gerçekleştirmektedir. Ham gliserol kullanılması biraz daha düşük verimle sonuçlansa da, bu durum ham gliserolün ön işleme tabi tutulmasının gereksiz olmasından kaynaklanan ekonomik tasarrufla telafi edilebilmektedir (Dobson et al., 2012). Ham gliserol kullanılarak elde edilen maksimum bütanol veriminin 0,3 g/g olduğunu bildirilmiştir ve bu durum, *C. acetobutylicum*'un glikozu metabolize ettiğinde elde edilen verimlerle karşılaştırılabilmektedir. *Clostridium* sp. CT7 suşu birincil işlem olmaksızın ham gliserolü, 11.8 g/L bütanole dönüştürmek için doğrudan kullanılmıştır (Xin et al., 2017).

Biyohidrojen

Hidrojen (H_2), yandığında sadece su üreten temiz ve yenilenebilir bir yakıttır. Bu durum CO_2, NOx, partikül ve diğer emisyonları önemli ölçüde azaltmaktadır. Hidrojen yalnızca temiz bir yakıt değil aynı zamanda gıda, ilaç, özel kimyasallar ve petrokimya ürünlerinin üretimi için değerli bir hammaddedir.

Karanlık fermantasyon tekniği, genellikle *Klebsiella* sp., *Clostridium pasteurianum*, *Clostridium butyricum*, *Thermotoga neapolitana* gibi toprak örneklerinden izole edilen çeşitli mikroorganizmalarla gerçekleştirilmektedir. Mikrobiyal kültür daha sonra atık gliserol, besinler (azot ve potasyum vb. içeren bileşikler) ve/veya maya içeren bir gliserol besiyerine, anaerobik bir ortamda yaklaşık 30-40 °C sıcaklıkta eklenmektedir. Bu suşların birçoğunun safsızlıkların yararlarından dolayı ham gliserol ile gerçekten daha iyi performans gösterdiği gözlemlenmiştir (He et al., 2017).

Yapılan bir araştırmada, mikrobiyal süreçlerden hidrojen üretimi için ham madde olarak ham gliserol kullanımı incelenmiştir ve *Enterobacter aerogenes* mikroorganizmasının ürettiği hidrojen miktarını 80 mmol/L olduğu sonucuna varılmıştır (Sarma et al., 2013).

Enterobacter aerogenes ve *Clostridium butyricum* ortak kültürüne bir yüzey aktif madde eklenmiş ve bu durum ham gliserolden hidrojen üretimini arttırmıştır (Pachapur et al., 2016). Ham gliserolün fermantasyonu için *Bacillus thuringiensis* EGU45H-2 kullanılmış ve 0.393 mol/mol besleme verimi elde edilmiştir (Kumar et al., 2015).

Süksinik asit

Süksinik asit, trikarboksilik asit döngüsünün (TCA, sitrat döngüsü) bir ara ürünü ve anaerobik metabolizmanın son ürünlerinden biri olduğu için fermantasyon yoluyla üretilebilmektedir. Fermentatif süksinik asit üretimi hem yabanıl tip suşlarla hem de genetiği değiştirilmiş mikroorganizmalarla gerçekleştirilmektedir. En umut verici yabanıl tip suşlar arasında *Actinobacillus succinogenes*, *Basfia succiniciproducens* ve ruminantların rumeninden izole edilen *Mannheimia succiniciproducens* bulunmaktadır (Kuenz et al., 2020).

Süksinat, gıda ve farmasötik ürünler, yeşil çözücüler, biyolojik olarak parçalanabilen plastikler, yüzey aktif maddeler, deterjanlar ve bitki büyümesini teşvik eden bileşenler üreten endüstrilerde özel kimyasal olarak büyük bir öneme sahiptir. Lineer doymuş dikarboksilik asit yapısından dolayı süksinat, bir ara kimyasal olarak kullanılabilmekte ve 1,4-bütandiol, tetrahidrofuran, γ-butirolakton ve lineer alifatik esterlere dönüştürülebilmektedir. Kullanımının polibütirat süksinat (PBS) ve poliamidler gibi biyolojik olarak parçalanabilen polimerlerin sentezine kadar genişletilmesi nedeniyle süksinik asit için artan bir talep beklenmektedir (Karve et al., 2014).

Actinobacillus succinogenes, süksinik asit üretimi için umut verici bir mikroorganizmadır. Yüksek konsantrasyonda süksinik asit toleransı ile çok çeşitli karbon kaynaklarını kullanma kabiliyetine sahip fakültatif anaerobik bir bakteri olan *Actinobacillus succinogenes* ile süksinik asit üretimi için ham gliserolün karbon kaynağı olarak kullanımı araştırılmıştır. Ham gliserolün substrat olarak kullanılmasının, asetik asit oluşumunu azalttığı ve ürünün sonraki prosesini kolaylaştırdığı bildirilmiştir. *Actinobacillus succinogenes* ile küçük ölçekli cam şişede geçekleştirilen fermentasyon deneylerinde, $MgCO_3$ takviyeli saf ve ham gliserol kullanılmış ve maksimum süksinik asit konsantrasyonu sırasıyla 6.8 ve 6.5 g/L olarak elde edilmiştir. Ham gliserol ortamında 17.9 g/L'lik en yüksek süksinik asit konsantrasyonu, kesikli ve yarı sürekli işlemlerden elde edilenlerden daha yüksek olan %99.9'luk maksimum gliserol kullanımıyla laboratuar ölçekli bir fermenterde kesikli fermantasyonda elde edilmiştir (Kanchanasuta et al., 2020).

Sitrik Asit

Sitrik asit yiyecek ve içecek endüstrisinde, temizlik ürünlerinde ve gıda sınıfı plastiklerde plastikleştirici olarak yaygın kullanıma sahiptir. Filamentli funguslar, mayalar ve bakteriler de dahil olmak üzere bir dizi mikroorganizma, şu anda ana üretim sistemi olan *A. niger* tarafından çeşitli karbonhidratların fermentasyonuyla elde edilebilmesine rağmen, sitrik asit üreticileri olarak kullanılmıştır (Nicol et al., 2012). Birçok araştırmacı, ham gliserol de dahil olmak üzere endüstriyel olarak sitrik asit üretmek için ucuz hammadde kullanmaya ilgi göstermiştir (Fan et al., 2010).

Ham gliserol üzerinde kesikli yetiştirme koşulları altında maya türü *Yarrowia lipolytica*'nın K-1, AWG-7, 1.31 dahil olmak üzere üç asetat mutantı tarafından sitrik asit biyosentezi potansiyeli incelenmiştir. Deneysel sonuçlar, *Y. lipolytica* 1.31 suşunun sitrik asit üretimi için en uygun olduğunu göstermiştir. Bu suş kullanılarak, 124,5 g /dm^3 sitrik asit üretimi, 0,62 g/g verim ve 0,88 g/dm^3.h verimlilik 200 g/ dm^3 gliserolün başlangıç konsantrasyonunda elde edilmiştir. (Rywińska et al., 2009).

Polialkonoatlar

Polihidroksialkanoatlar (PHA'lar) yenilenebilir, biyolojik olarak parçalanabilir ve biyolojik olarak uyumlu termoplastikler olarak potansiyel uygulamaları nedeniyle büyük ilgi görmektedir. Çoğu ortamda bulunan mikroorganizmalar tarafından tamamen parçalanabilmekte ve farklı yenilenebilir karbon kaynaklarından üretilebilmektedir (Almeida et al., 2012). Polihidroksialkanoatlar (PHA'lar), sentetik plastiklere çok benzer karakteristik özelliklere sahiptir. PHA'ları çekici biyomedikal malzemeler yapan özel özellikler, biyouyumluluk biyobozunurluğu ve toksik olmamasıdır. Biyo-kontrol ajanları, ilaç taşıyıcıları, biyolojik olarak parçalanabilen implantlar, doku mühendisliği, hafıza geliştiriciler ve antikanser ilaçları için birçok tıbbi uygulamaya uygun PHA'lar bulunmuştur. Ham gliserolün, PHA üretimi için potansiyel düşük maliyetli hammaddeler olduğu kanıtlanmıştır. Polihidroksialkanoatlar (PHA'lar), hücre içi fermantasyon yoluyla gliserol kullanılarak birçok mikrobiyal suşun fermantasyonu ile oluşturulan doğal biyopolimerleri yansıtmaktadır (Chilakamarry et al., 2021).

Poli- 3-hidroksibütirat (PHB), polihidroksialkanoatlar (PHA'lar) grubuna aittir ve biyolojik olarak parçalanabilen polyesterlerin en iyi çalışılmış örneğidir. Bu polimer, karbon ve enerji için bir depolama bileşiği olarak çok çeşitli bakteri türleri tarafından doğal olarak sentezlenmektedir. Günümüzde, PHB'nin ticari üretimi küçüktür ve substrat maliyeti ile sınırlıdır. Bu nedenle, ucuz ham gliserolün biyodizel endüstrisinden PHB'ye verimli bir şekilde dönüştürülmesi, üretim maliyetlerini azaltmak ve PHB'yi endüstriyel bir biyoteknolojik ürün yapmak için bir fırsattır. Gerçekten de, gliserolden mikrobiyal PHB sentezi, birkaç PHA üreticisi ile ve farklı fermantasyon koşulları altında değerlendirilmiştir (Almeida et al., 2012).

Paracoccus denitrificans ve *Cupriavidus necator* JMP 134 ile PHB üretimi için ham gliserol kullanımının fizibilite çalışması ile, elde edilen polimerlerin glikozdan elde edilenlere çok benzer olduğu gösterilmiştir. Ancak NaCl ile kontamine ham gliserol kullanıldığında PHB üretimi önemli ölçüde azalmıştır. Ayrıca, büyük ölçekli PHB üretimi için ham gliserolün *Cupriavidus necato*r DSM 545 fermentasyonuna dayalı bir süreç tasarlanmıştır. Bununla birlikte, sodyum yine hücre büyümesini engellemiştir (Cavalheiro et al., 2009). *Zobellella denitrificans* MW1, özellikle NaCl varlığında, büyüme ve yüksek konsantrasyonda PHB üretimi için ham gliserol kullanabilmektedir.

Bu nedenle, ham gliserol ile büyük ölçekli PHB üretimi için çekici bir seçenek olarak önerilmiştir (Ibrahim & Steinbüchel, 2009).

Biyosürfaktanlar

Sürfaktanlar; amfifilik petrol bazlı ürünlerdir ve çözücü, emülgatör ve dağıtıcı olarak hareket etme yetenekleri ile tanınmaktadır. Biyosürfaktanlar olarak adlandırılan yapısal olarak karşılaştırılabilir moleküller, mikroorganizmalar tarafından üretilebilmektedir. Bu moleküller hem hidrofobik hem de karbonhidrat substratlarından hücre dışı olarak elde edilmektedir. Bakteri türleri, biyosürfaktan üreticileri olarak araştırmalara egemen olmuştur; ancak patojenik yapıları bu amaç için geniş ölçekli kullanımlarını sınırlamıştır (Amaral ve ark. 2010). Son zamanlarda yapılan çalışmalar *Candida*, *Pseudozyma* ve *Ustilago* cinslerindeki fungusların glikolipid biyosürfaktanlar üretebileceğini ortaya koymuştur. Glikolipidler geniş bir biyosürfaktan sınıfıdır ve ramnolipidleri, soforolipidleri, selobiyosellipıdleri, trehaloselipidleri ve mannosil eritritol lipidlerini içermektedir (Develter ve Lauryssen 2010). (Nicol et al., 2012).

Candida bombicola ATTC 22214, gliserolden nispeten büyük miktarlarda soforolipid üretebilmektedir. İlginç bir şekilde, ham gliserolün soforolipid üretimi için daha iyi bir substrat olduğu kanıtlanmıştır, bu durum 40 g/L'nin üzerinde bir konsantrasyon ile sonuçlanırken, saf gliserol ile kültürleme sadece 9 g/L soforolipid üretimi ile sonuçlanmıştır. Üretilen yüksek konsantrasyona ek olarak, ham gliserol veya saf gliserol kullanımı soforolipidlerin kimyasal yapısını etkilemiştir (Ashby et al., 2005).

Ham gliserolün de mannosylerythritol lipids (MEL) üretimi için etkili olduğu kanıtlanmıştır. Atık yemeklik yağın transesterifikasyonundan 50 g/L ham gliserol kullanarak ve ustilajik asit bazlı biyosürfaktanlar başarıyla üretilmiştir. Kesikli kültürlerde *Ustilago maydis* fungusun büyümesi, saf gliserolde gözlemlenenden önemli ölçüde daha iyidir ve toplam glikolipid verimi, glikoz kültürlerinde elde edilenle karşılaştırılabilmektedir. Optimal kültür parametreleri oluşturularak (pH 4, 50 g/L ham gliserol, 30°C, eser elementlerin eklenmesi), 8 gün sonunda toplam 32.1 g/L glikolipid konsantrasyonu elde edilmiştir (Y. Liu et al., 2011).

Mikrobiyal lipidler ve biyodizel

Tek hücre yağı (SCO) olarak da adlandırılan mikrobiyal lipidler, bakteri, fungus ve alg gibi yağlı mikroorganizmalardan elde edilmektedir. Kuru hücre biyokütlesinin %20'sinden daha yüksek seviyelerde lipid biriktiren mikroorganizmalar, oleaginous mikroorganizma olarak bilinmektedir. Oleaginous suşlardan elde edilen lipidler, kimyasal olarak bitkisel yağlara benzemekle birlikte biyodizel ve biyopolimerlere dönüştürülebilmektedir. Bu nedenle, mikrobiyal lipidler, bitkı ve hayvan bazlı yağlara potansiyel bir alternatif olarak kabul edilmektedir (Uprety et al., 2017). Funguslar, mayalar, bitkiler, mikroalgler ve hayvanlar gibi ökaryotik hücrelerin çoğu, lipidleri

triaçilgliserol (TAG) formunda biriktirmektedir. TAG'lar, hücre içi enerji depolama ve dengede önemli bir rol oynamaktadır. Ham gliserolden mikrobiyal lipit üretimi, mevcut biyodizel üretim tesislerine kolayca entegre edilebildiğinden, nakliye maliyetinden ve başlangıç maliyetlerinden tasarruf sağladığı için çekici bir kavramdır. Birçok fungus, maya veya mikroalg, ham gliserol üzerinde büyüme ve lipit üretme yetenekleri açısından araştırılmıştır (Signori et al., 2016).

Kesikli ve kesikli besleme fermentasyonu tekniği kullanarak *Chlorella protothecoides* UTEX 256'in ham gliserol ortamında lipid üretim yeteneği araştırılmıştır. Kesikli fermentasyon ile %62 lipid içeriği ile 23.5 g/L biyokütle elde edilirken, kesikli beslemeli olarak büyütüldüğünde ise %54 lipid içeren 45.1 g/L biyokütle elde edilmiştir. Kesikli beslemeli fermentasyon tekniğinde lipid içeriği daha az olmasına rağmen, bu yaklaşımla lipid üretkenliğinin (g/(L/gün)) daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Chen & Walker, 2011).

Biyodizel endüstrisinden ham gliserolün dönüştürülmesi için *Mortierella isabellina*, *Mortierella alpine*, *Cunninghamella echinulate*, *Thamnidium elegans* ve *Aspergillus niger*'in kullanımı incelenmiştir. Bu fungus türleri tarafından biriktirilen lipidlerin oranı ağırlıkça % 41.4 ile %71.1 arasında değişmektedir (Uprety et al., 2017).

Çalkalamalı cam şişe ile yapılan deneylerde *T. elegans* CCF 1465'ün yetiştirilmesinde karbon kaynağı olarak ham gliserol kullanılmıştır ve ağırlıkça %71.1 lipid içeriği ile 16.3 g/L biyokütle üretimi gerçekleştirilmiştir (Ripoll & Betancor, 2021).

Yapılan çalışmalarda bazı *Aspergillus* türlerinin, ham gliserolde bulunan yüksek konsantrasyonlardaki tuzlara ve diğer safsızlıklara karşı toleranslı olduğu gösterilmiştir. Ham gliserolün tuz konsantrasyonu çok yüksek olmasına rağmen *A. niger* LFMB 1 ve *A. niger* NRRL 364 ham gliserol ortamında büyütüldüğünde, biyokütlelerin lipit içeriği sırasıyla %57.4 ve %41.4 olarak elde edilmiştir (Liu et al., 2017). Elde edilen lipidler ağırlıklı olarak oleik ve linoleik asitler açısından zengin olup, bu durum söz konusu mikroorganizmaların yakıt ve gıda endüstrilerinde kullanmasını uygun hale getirmektedir (Uprety et al., 2017).

Mayalar, diğer fungus gruplarından (esas olarak küfler) daha hızlı büyüyebilmektedir ve bu durum lipit üretkenliğini artırmaktadır. Ayrıca algler (ışık kaynağı ve fosfor gereksinimi) gibi özel büyüme koşulları gerektirmemektedir. *Yarrowia*, *Candida*, *Rhodotorula*, *Rhodosporidium*, *Cryptococcus* ve *Lipomyces* cinslerine ait çeşitli oleaginous mayalar, karbon kaynağı olarak ham gliserol kullanma yetenekleri açısından incelenmiştir. Ham gliserol üzerinde geliştirilen *Rhodosporidium toruloides* AS2.1389 için ağırlıkça %69.5'e kadar lipid içeren hücreler bildirilmiştir (Liang & Jiang, 2013). *Yarrowia lipolytica* QU 21, *Trichosporondoides spathulata* JU4-57, *Lipomyces starkeyi*

DSM 70296, *Candida* spp., *Trichosporon fermentans* CICC1368, *Trichosporon cutaneum* AS2.0571 ve *Kodamaea ohmeri* BY4-523'de karbon kaynağı olarak ham gliserol ile lipid üretme yetenekleri açısından incelenmiştir (Uprety et al., 2017).

2. Sonuç

Gliserol, biyodizel endüstrisinin yan ürünü olduğundan, biyodizel üretimi arttıkça elde edilen ham gliserolün miktarı da artmaya devam etmektedir. Ham gliserol çevreye toksik etki göstermektedir ve bu nedenle uzaklaştırılması gerekmektedir. Biyodizel endüstrisi göz önüne alındığında ham gliserolün yenilenebilir doğası nedeniyle, biyoteknolojik proseslerde mikroorganizmalar tarafından kullanıldığı ve gliserolü kullanarak endüstriyel öneme sahip ürünler ürettiği bilinmektedir. Bu ürünlere örnek olarak 1,3 propandiol, bütandiol, etanol, biyohidrojen, sitrik asit, süksinik asit, sürfaktanlar, tek hücre lipidi, biyodizel, polihidroksi-alkonoatlar vb. verilebilmektedir. İlerleyen araştırmalarda ham gliserolün daha etkin ve verimli biyodönüşümü için giderek artan bir ilgi öngörülmektedir.

REFERANSLAR

1. Almeida, J. R. M., Fávaro, L. C. L., & Quirino, B. F. (2012). Biodiesel biorefinery: opportunities and challenges for microbial production of fuels and chemicals from glycerol waste. *Biotechnology for Biofuels*, *5*(1), 48. https://doi.org/10.1186/1754-6834-5-48
2. Ashby, R. D., Nuñez, A., Solaiman, D. K. Y., & Foglia, T. A. (2005). Sophorolipid biosynthesis from a biodiesel co-product stream. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, *82*(9), 625–630. https://doi.org/10.1007/s11746-005-1120-3
3. Cavalheiro, J. M. B. T., de Almeida, M. C. M. D., Grandfils, C., & da Fonseca, M. M. R. (2009). Poly(3-hydroxybutyrate) production by Cupriavidus necator using waste glycerol. *Process Biochemistry*, *44*(5), 509–515. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2009.01.008
4. Chen, Y. H., & Walker, T. H. (2011). Biomass and lipid production of heterotrophic microalgae Chlorella protothecoides by using biodiesel-derived crude glycerol. *Biotechnology Letters*, *33*(10), 1973–1983. https://doi.org/10.1007/s10529-011-0672-y
5. Chilakamarry, C. R., Sakinah, A. M. M., Zularisam, A. W., & Pandey, A. (2021). Glycerol waste to value added products and its potential applications. *Systems Microbiology and Biomanufacturing*, *0123456789*. https://doi.org/10.1007/s43393-021-00036-w
6. Choi, W. J., Hartono, M. R., Chan, W. H., & Yeo, S. S. (2011). Ethanol production from biodiesel-derived crude glycerol by newly isolated Kluyvera cryocrescens. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *89*(4), 1255–1264. https://doi.org/10.1007/s00253-010-3076-3
7. Dobson, R., Gray, V., & Rumbold, K. (2012). Microbial utilization of crude glycerol for the production of value-added products. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, *39*(2), 217–226. https://doi.org/10.1007/s10295-011-1038-0
8. Dolejš, I., Monika, L., Rosenberg, M., Lorenzini, F., Marr, A. C., & Rebroš, M. (2019). *Glycerol Using Immobilized Clostridium butyricum*. *9*(317), 1–13. https://doi.org/10.3390/catal9040317
9. Fan, X., Burton, R., & Zhou, Y. (2010). Glycerol (byproduct of biodiesel production) as a source for fuels and chemicals - Mini review. *Open Fuels and Energy Science Journal*, *3*, 17–22. https://doi.org/10.2174/1876973X01003010017
10. González-Pajuelo, M., Meynial-Salles, I., Mendes, F., Soucaille, P., & Vasconcelos, I. (2006). Microbial conversion of glycerol to 1,3-propanediol: Physiological comparison of a natural

producer, Clostridium butyricum VPI 3266, and an engineered strain, Clostridium acetobutylicum DG1(pSPD5). *Applied and Environmental Microbiology*, *72*(1), 96–101. https://doi.org/10.1128/AEM.72.1.96-101.2006

11. Hajar, S., Azhar, M., Abdulla, R., Jambo, S. A., Marbawi, H., Azlan, J., Azifa, A., Faik, M., & Francis, K. (2017). *Yeasts in sustainable bioethanol production : A review*. *10*(February), 52–61. https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2017.03.003
12. He, Q. (Sophia), McNutt, J., & Yang, J. (2017). Utilization of the residual glycerol from biodiesel production for renewable energy generation. In *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (Vol. 71, pp. 63–76). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.12.110
13. Hiremath, A., Kannabiran, M., & Rangaswamy, V. (2011). 1,3-Propanediol production from crude glycerol from jatropha biodiesel process. *New Biotechnology*, *28*(1), 19–23. https://doi.org/10.1016/j.nbt.2010.06.006
14. Ibrahim, M. H. A., & Steinbüchel, A. (2009). Poly(3-hydroxybutyrate) production from glycerol by Zobellella denitrificans MW1 via high-cell-density fed-batch fermentation and simplified solvent extraction. *Applied and Environmental Microbiology*, *75*(19), 6222–6231. https://doi.org/10.1128/AEM.01162-09
15. Kanchanasuta, S., Champreda, V., Pisutpaisal, N., & Singhakant, C. (2020). Optimization of bio-succinic fermentation process from crude glycerol by Actinobacillus succinogenes. *Environmental Engineering Research*, *26*(4), 200121–0. https://doi.org/10.4491/eer.2020.121
16. Karve, M., Patel, J. J., & Patel, N. K. (2014). BIOCONVERSION OF GLYCEROL. *Journal of Critical Reviews*, *1*(1), 29–35. https://innovareacademics.in/journals/index.php/jcr/article/view/2698/5275
17. Khanna, S., Goyal, A., & Moholkar, V. S. (2012). Microbial conversion of glycerol: Present status and future prospects. *Critical Reviews in Biotechnology*, *32*(3), 235–262. https://doi.org/10.3109/07388551.2011.604839
18. Kosamia, N. M., Samavi, M., Uprety, B. K., & Rakshit, S. K. (2020). Valorization of biodiesel byproduct crude glycerol for the production of bioenergy and biochemicals. *Catalysts*, *10*(6), 609. https://doi.org/10.3390/catal10060609
19. Kuenz, A., Hoffmann, L., Goy, K., Bromann, S., & Prüße, U. (2020). High-level production of succinic acid from crude glycerol by a wild type organism. *Catalysts*, *10*(5), 470. https://doi.org/10.3390/catal10050470
20. Kumar, P., Sharma, R., Ray, S., Mehariya, S., Patel, S. K. S., Lee, J. K., & Kalia, V. C. (2015). Dark fermentative bioconversion of glycerol to hydrogen by Bacillus thuringiensis. *Bioresource Technology*, *182*, 383–388. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.01.138
21. Liang, M. H., & Jiang, J. G. (2013). Advancing oleaginous microorganisms to produce lipid via metabolic engineering technology. *Progress in Lipid Research*, *52*(4), 395–408. https://doi.org/10.1016/j.plipres.2013.05.002
22. Liu, L. ping, Hu, Y., Lou, W. yong, Li, N., Wu, H., & Zong, M. hua. (2017). Use of Crude Glycerol as Sole Carbon Source for Microbial Lipid Production by Oleaginous Yeasts. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, *182*(2), 495–510. https://doi.org/10.1007/s12010-016-2340-0
23. Liu, Y., Koh, C. M. J., & Ji, L. (2011). Bioconversion of crude glycerol to glycolipids in Ustilago maydis. *Bioresource Technology*, *102*(4), 3927–3933. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.11.115
24. Monteiro, M. R., Kugelmeier, C. L., Pinheiro, R. S., Batalha, M. O., & da Silva César, A. (2018). Glycerol from biodiesel production: Technological paths for sustainability. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *88*, 109–122. https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.02.019
25. Pachapur, V. L., Sarma, S. J., Brar, S. K., Le Bihan, Y., Buelna, G., & Verma, M. (2016). Surfactant mediated enhanced glycerol uptake and hydrogen production from biodiesel waste using co-culture of Enterobacter aerogenes and Clostridium butyricum. *Renewable Energy*, *95*, 542–551. https://doi.org/10.1016/j.renene.2016.03.097
26. Posada, J. A., & Cardona, C. A. (2010). Design and analysis of fuel ethanol production from raw glycerol. *Energy*, *35*(12), 5286–5293. https://doi.org/10.1016/j.energy.2010.07.036
27. Ripoll, M., & Betancor, L. (2021). Opportunities for the valorization of industrial glycerol via biotransformations. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, *28*, 100430. https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2020.100430

28. Rywińska, A., Rymowicz, W., Zarowska, B., & Wojtatowicz, M. (2009). Biosynthesis of citric acid from glycerol by acetate mutants of Yarrowia lipolytica in fed-batch fermentation. *Food Technology and Biotechnology*, *47*(1), 1–6.
29. Samul, D., Leja, K., & Grajek, W. (2014). Impurities of crude glycerol and their effect on metabolite production. *Annals of Microbiology*, *64*(3), 891–898. https://doi.org/10.1007/s13213-013-0767-x
30. Sarma, S. J., Dhillon, G. S., Brar, S. K., Le Bihan, Y., Buelna, G., & Verma, M. (2013). Investigation of the effect of different crude glycerol components on hydrogen production by Enterobacter aerogenes NRRL B-407. *Renewable Energy*, *60*, 566–571. https://doi.org/10.1016/j.renene.2013.06.007
31. Signori, L., Ami, D., Posteri, R., Giuzzi, A., Mereghetti, P., Porro, D., & Branduardi, P. (2016). Assessing an effective feeding strategy to optimize crude glycerol utilization as sustainable carbon source for lipid accumulation in oleaginous yeasts. *Microbial Cell Factories*, *15*(1), 1–19. https://doi.org/10.1186/s12934-016-0467-x
32. Sivasankaran, C., Ramanujam, P. K., Balasubramanian, B., & Mani, J. (2019). Recent progress on transforming crude glycerol into high value chemicals: a critical review. *Biofuels*, *10*(3), 309–314. https://doi.org/10.1080/17597269.2016.1174018
33. Uprety, B. K., Venkatesagowda, B., & Rakshit, S. K. (2017). Current Prospects on Production of Microbial Lipid and Other Value-Added Products Using Crude Glycerol Obtained from Biodiesel Industries. *BioEnergy Research*, *10*(4), 1117–1137. https://doi.org/10.1007/s12155-017-9857-0
34. Veza, I., Muhamad Said, M. F., & Latiff, Z. A. (2021). Recent advances in butanol production by acetone-butanol-ethanol (ABE) fermentation. *Biomass and Bioenergy*, *144*(August 2019), 105919. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2020.105919
35. Viana, M. B., Freitas, A. V., Leitão, R. C., Pinto, G. A. S., & Santaella, S. T. (2012). Anaerobic digestion of crude glycerol: a review. *Environmental Technology Reviews*, *1*(1), 81–92. https://doi.org/10.1080/09593330.2012.692723
36. Willke, Th, & Vorlop, K. D. (2004). Industrial bioconversion of renewable resources as an alternative to conventional chemistry. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *66*(2), 131–142. https://doi.org/10.1007/s00253-004-1733-0
37. Xin, F., Chen, T., Jiang, Y., Lu, J., Dong, W., Zhang, W., Ma, J., Zhang, M., & Jiang, M. (2017). Enhanced biobutanol production with high yield from crude glycerol by acetone uncoupled Clostridium sp. strain CT7. *Bioresource Technology*, *244*(July), 575–581. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.002